Chinese Agron. J. 5 : 91-101 (1995)
Chinese Society of Agronomy © 1995

黨參利用組織培養之大量繁殖

張平順[1] 蔡新聲[2]

[1]國立嘉義農業專科學校農藝科 [2]臺灣省農業試驗所農藝系

摘要：本試驗之目的在建立藥用植物黨參利用組織培養大量繁殖之方法。結果發現以黨參之葉、莖段、節、莖頂及根為不同來源之培植體誘導不定芽之形成，以接近莖頂部份之莖段最好、莖頂次之，再其次為節，而以葉部最差，而以根為培植體者，則因消毒不全導致發霉而無結果。以莖段為培植體則以距離莖頂5 cm以內之莖段，誘導不定芽能力最高(0.5 cm之莖段平均可獲得11個不定芽)，其次為距莖頂5.1～10 cm者，而以距莖頂10.1～20 cm者較差；莖段誘導不定芽的產生，以含0.1 mg / l NAA及2-4 mg / l BA之MS培養基較佳。誘導不定芽之發根則以含有1~2 mg/l NAA，5%Sucrose，及1/4 MS基礎鹽類的培養基最好。將含有良好根系之試管苗移植於含有1/3腐質土之壤土，或壤土：蛭石：腐質土＝2：1：1之介質中，成活率均可達100%。利用本研究所建立之培養模式，可大量繁殖黨參供藥用。

關鍵語：黨參、組織培養、大量繁殖。

Rapid clonal propagation of *Codonopsis radix* by tissue culture

Ping-Shun Chang[1] and Hsin-Sheng Tsay[2]
[1]Department of Agronomy, National Chia-Yi Institute of Agriculture, Chia-Yi 60038, Taiwan, R.O.C
[2]Department of Agronomy, Taiwan Agricultural Research Institute, Wufeng Taichung, 41301, Taiwan, R.O.C

Abstract. The purpose of this study is to establish the tissue culture techniques for mass propagation of a Chinese medicinal herb, *Codonopsis radix*. It was found that adventitious buds could be regenerated from the excised explant directly. Difference in the ability of forming adventitious buds was observed among different plant organs

with stem segment near shoot tip showing the highest regeneration ability followed by shoot tip, node and leaf blade. Data were not obtained from root explant due to contamination. Apical part of the stem segment (within 5 cm from the shoot tip) produced higher adventitious buds when compared to basal part of the stem segment. Apical part of the stem segments could produce 11 adventitious buds on a medium containing MS salts with 3%sucrose, 0.9% agar, 0.1 mg/1 NAA and 2-4 mg/1 BA. Concentration of MS salts, NAA and sucrose affected not only root formation from adventitious buds, but also root number and length. The best combination was 1/4 strength of MS salts with 5% sucrose and 1-2 mg/1 NAA. The high survival rate of 100 % was recorded when plantlets were transplanted from test tube onto soil/peat moss(2:1), or soil/vermiculite/peat moss (2:1:1). Thus we concluded that tissue culture technique appears to possess potential for mass propagation to *Codonopsis radix* plant for commercial use.

Key words: Codonopsis radix, Tissue culture, Clonal propagation.

前　言

黨參爲多年生藥用草本植物，性平、味甘主治脾虛、心悸、氣短及四肢無力等功效，以根入藥，成分含有澱粉(starch)、皂素(saponin)及糖分等，主要產地在河北、河南及黑龍江各省(Li et al. 1993, Niu et al. 1989 ,1991)。黨參別名遼黨、潞黨或臺黨等名稱，屬桔梗目(Campanales)桔梗科(Campanulaceae)，植株長1-2公尺左右，葉對生，呈綠色，微帶碧黃，多數簇生長柄，根長圓錐柱形，表面淺灰色，內有菊花心，採收時用鏟具掘取周圍之土取其根莖，謹防鏟傷其莖，若傷其莖，失去莖間之白色乳汁，藥效必失其大半(Li et al. 1993)。Yoshikawa and Furuya (1987)指出凡醫藥中應用人參者，常以黨參爲代用品，此乃因黨參價廉，且功用堪信，及因黨參功效雖不如人參，然已相差不遠，其尤可貴者爲黨參健脾運兒不燥，滋胃陰而不溼，潤肺並不犯寒涼，養血又不偏滋膩，而無剛燥之弊；以理論之，高麗參氣味固較雄偉，但失之氣味剛烈，實不如黨參能得到中和(Li et al. 1993)；由於國人對健康用藥知識大幅提昇，及藥用植物漸被接受，國藥市場對黨參之需求有日增趨勢，Tsay (1993)指出組織培養技術不但可將瀕臨絕種的中藥起死回生大量繁殖，以應日後殷切的需求（例如金線蓮的大量繁殖供應生藥市場），而且可藉細胞懸浮培養技術，工業化大量生產人類有用的中藥成份（二次代謝物）。臺灣地區雖有自生之黨參，但素來極少開發，市場上均未利用，一般皆仰賴進口，每年花費外匯至鉅。台灣黨參自生於中海拔約一千公尺之高山叢林草原間，一般均依自身之種子繁殖，但繁殖速度極爲緩慢，且因人類之頻頻開發山坡地及砍伐森林，因此一些經濟價值高之植物如黨參等已面臨絕種之邊緣，無法大量生產以供藥用

。有鑑於此，本試驗乃進行黨參組織培養之研究，以期能提供實際之大量繁殖及栽培生產，達到藥用資源的開發與利用，節省大量外匯等目的。

材料與方法

一、材料

本研究使用之材料，係八十二年底採自嘉義縣梅山鄉瑞里附近海拔1000公尺左右之山區。將採回之黨參，除去原有之莖葉，將帶根之莖段種植於壤土及蛭石等比例混合植材之素燒盆中，馴化及健化期間僅澆水而不施肥，待根蘆頭處長出新芽後供試驗之用。

二、方法

(一)不同部位培植體之採樣及消毒

1.莖頂：取自盆栽黨參之莖頂，先以清水洗淨，再以0.1%次氯酸鈉(50 ml滴加Tween 20一滴)溶液於超音波振盪器中消毒15分鐘，移至無菌操作台，以無菌水清洗三次後切取1～2 mm之莖頂接種(Chen 1991)。

2.葉片：取自盆栽之葉片，先以清水沖洗，再以70 %酒精消毒30秒，次以0.5%次氯酸鈉於超音波振盪器中消毒5分鐘後，於無菌台上以無菌水清洗三次後備用。

3.節（含側芽）：取自盆栽黨參之節，先以70%酒精消毒30秒，再以1%次氯酸鈉於超音波振盪器中消毒15分鐘，於無菌台上以無菌水清洗三次後備用。

4.莖段：取自盆栽之植株，除去節後剩餘之莖段部份，消毒方法同節部，將莖段切成0.5cm之長度培養。

5.根：取自野生黨參之根，除去鬚根，先以清水洗淨後，次以70%酒精擦拭表皮，再以70 %酒精消毒30秒，接著以1%次氯酸鈉於超音波振盪器消毒15分鐘，於無菌台以無菌水清洗三次，將無菌根之外表皮切除，將根切成厚度2 mm之片狀（含形成層）接種。

(二)使用之培養基

以MS (Murashige and Skoog 1962)配方所含之無機鹽類爲基本培養基，添加各類植物生長調節劑如NAA (α-naphthaleneacetic acid)、IBA(indolebutyric acid)、BA(benzyladenine) 等，培養基加入agar前，先用1 N NaOH及HCl將pH值調至5.7±0.1，然後以121℃、15 lb/in^2 (1.05 kg/cm^2)之高溫高壓殺菌15分鐘後，取出斜擺冷卻後使用。

(三)培養環境

接種後之材料置於25±1℃之恆溫，暗處理四週後以每日照光(2000 lux) 16hr培養之。

(四)移植

待分化培養基所得之綠苗，形成較佳根系後，取出以自來水洗淨培養基，並用1000倍億力(Dupon Co. LTD)消毒5分鐘，移植於不同混合比例之壤土、蛭石及泥炭土等植材中種植，

將移植後之種植盆放置於生長箱內（白天25℃夜間20℃），適當澆水以維持濕度，大約半個月後移出生長箱，置於有遮光網之網室中生長。

㈤統計分析法

各處理間之比較，係以Duncan's多變域測定法(multiple range test)測定其差異性。

結　果

一、黨參芽體大量繁殖之探討

㈠不同部位培植體誘導不定芽之能力

表一顯示黨參不同部位培植體誘導不定芽之能力各有不同，經50天培養後，以莖段形成不定芽之能力最佳，平均可得6.80個不定芽；生長點次之，平均可得5.75個不定芽，再其次爲節部平均可得4.18個不定芽，而以葉片誘導不定芽之能力最差，僅得1.83個不定芽，不定芽形成之時間則以生長點及節部較快，約在培養20-30天後即可見叢生芽體，而莖段及葉片則較慢，約在培養50天後始可見叢生狀芽體（圖1），另以黨參之根爲材料，則因消毒不易，接種後有感染霉菌之現象，而無法獲得結果。

㈡黨參之莖段誘導不定芽之能力

黨參之莖段，經去除約0.5公分之莖頂，及去除每一莖節部份後，將莖段分爲(Ⅰ)自莖頂以下0.5公分～5.0公分之莖段，(II)自莖頂以下5.1公分～10公分之莖段，(III)自莖頂以下10.1～20公分之莖段。將上述三種莖段切成長度約爲5 mm之培植體，分別接於含有不同BA濃度之MS培養基中，以觀察其誘導不定芽之能力。經培養三週後，發現切傷處有膨大現象，尤其是在露出培養基表面之一端，經過50天培養後調查，結果發現原先膨大部份由黃白色漸變成綠色，且由膨大處之邊緣產生叢生狀細小芽體（圖1），表2之結果顯示，靠近莖頂處之莖

Table 1. The adventitious buds forming ability of explants dissected from different tissue of *Codonopsis radix**

Explant source	No. of explants cultured	No. of explants producing adventitious buds	No. of adventitious buds produced	No. of adventitious buds produced per explant
Shoot tip	8	8	46	5.75b***
Leaf	80	6	11	1.83d
Stem segment	60	57	388	6.80a
Node	30	28	117	4.18c
Root**	13	-	-	-

* Basal medium: MS salts with 2 mg/1 BA ,0.1 mg/1 NAA,3 % sucrose and 0.9% agar. Culture duration: 50 days.

** Data was not obtained due to contamination.

*** Means followed with the same letter in each vertical column are not significantly different at 5% level by Duncan's multiple range test.

Fig. 1. The adventitious buds produced from stem segments. Stem segments were cultured on medium containing MS basic salts supplemented with 3% sucrose, 0.9% agar, 0.1 mg/l NAA and 2-4 mg/l NAA for 50 days.

Table 2. The adventitious bud forming ability from different position of stem segments of *Codonopsis radix**

MS salts with		Position of stem segments**					
		Apical part		Middle part		Basal part	
NAA	BA (mg/1)	% of stem forming adventitious buds	No. of bud produced per explant	% of stem forming adventitious buds	No.of bud produced per explant	% of stem forming adventitious buds	No. of bud produced per explant
0.1	0.5	80	7.2[c]	45	3.1[c]	5	0.0b***
0.1	1.0	80	7.0[c]	60	4.7[b]	0	0.0[b]
0.1	2.0	95	11.2[a]	90	8.0[a]	40	1.8[a]
0.1	4.0	90	11.0[a]	90	8.2[a]	50	1.8[a]
0.1	8.0	80	7.8[b]	60	3.7[c]	0	0.0[b]

*Apical, middle and basal parts are 0.5 - 5.0 cm, 5.1 - 10.0 cm and 10.1 - 20.0 cm from shoot tip, respectively.
** Data representing 20 stem segments which have been cultured for 8 weeks.
*** Same as Table 1.

段培養於含有0.5～8 mg/l BA，可形成7～11個不定芽，而以2~4 mg/l之培養基(I 處理）誘導不定芽形成之能力(90%以上)及不定芽數最好，平均可產生多達11個左右之不定芽；而中間部份之莖段(II)處理產生不定芽之能力次之，平均有8.0個不定芽（在2～4 mg/l BA之培養基），而下部之莖段誘導不定芽之能力較差(約40-50%)，平均不定芽數只有1.8個(在2～4 mg/l BA之培養基)。

二、發根試驗

(一)不同NAA 濃度對不定芽發根之影響

以MS 鹽類爲基本培養基，添加不同濃度之 NAA及IBA，探討其對不定芽發根之影響，結果如表3得知，NAA誘導不定芽發根之能力較IBA強，且NAA所誘得之根較粗（圖2），表3及表4結果均顯示含有1～2mg/l NAA之培養基較有利於黨參不定芽之發根；過低之NAA濃度，根數及根長均相對減少或縮短，而過高之NAA(8 mg/l)則極易誘導形成Callus，對黨參之大量繁殖及發根並無幫助。

(二)蔗糖濃度對不定芽發根之影響

將黨參不定芽接種至含不同蔗糖濃度之培養基中，結果發現5 %蔗糖的培養基發根率最好，平均根數可多達11.2，平均根長也最長，3 %蔗糖之培養基發根率次之，7 %蔗糖之培養基則已呈濃度過高之害，不利於發根，而低於1 %蔗糖之培養基不定芽之發根極差（表 5）。

(三)MS基本鹽類對不定芽發根之影響

表6顯示不同濃度之MS鹽類對黨參不定芽發根之影響，結果以1/4 MS之發根率最高，

Table 3. Influence of auxin on root formation from adventitious buds of *Codonopsis radix**

Basal medium with NAA (mg/1)	Basal medium with IBA (mg/1)	% of adventitious buds producint roots	No. of root produced per adventitious buds	Average root length (cm)
0.0	0.0	0	0.0[b]	0.00[d] **
0.5	0.0	60	3.6[b]	1.05[b]
1.0	0.0	85	7.8[a]	2.12[a]
2.0	0.0	90	8.0[a]	1.80[a]
0.0	0.5	50	2.2[c]	0.72[c]
0.0	1.0	40	1.6[c]	0.90[b]

* Fifteen adventitious buds were used for each treatment. Culture duration: 28 days. Basal medium: MS salts with 3% sucrose and 0.9% agar.

** ( ): % adventitious buds forming callus.

*** Same as Table 1.

Fig 2. Rooted plant of *Codonopsis radix* obtained from adventitious buds. adventitious buds were cultured in 1/4 strength solid MS medium with 5% sucrose and 1 mg/l NAA for 8 weeks.

Table 4. Influence of NAA concentration on root formation from adventitious buds of *Codonopsis radix* *

Basal medium with NAA (mg/l)	% of adventitious buds producing roots	No. of root produced per adventitious buds	Average root length (cm)
0.0	0.0(0)	0.0^{d}	0.0^{d}
0.5	20.0(100)	1.2^{c}	1.2^{c}
1.0	80.0(100)	4.0^{b}	2.8^{a}
2.0	87.0(100)	4.7^{a}	2.3^{b}
4.0	83.0(100)	3.6^{b}	2.2^{b}
8.0	30.0(100)	1.2^{c}	1.0^{c}

* Twenty adventitious buds were used for each treatment. Basal medium: MS salts with 3% sucrose and 0.9% agar.

** ( ) : % adventitious buds forming callus.

*** Same as Table 1.

Table 5. Effects of sucrose concentration on root formation from adventitious buds of *Codonopsis radix**

Sucrose conc. (%)	% of adventitious buds forming roots	No. of root produced per adventitious buds	Average root length (cm)
0	0	0.0[e]	0.00[d**]
1	10	1.5[d]	0.28[cd]
3	80	8.6[b]	0.83[b]
5	100	11.2[a]	1.22[a]
7	70	4.2[c]	0.43[c]

* Basal medium: MS salts with 1 mg/1 NAA and 0.9% agar .
** Same as Table 1.

Table 6. Influence of MS salts on root formation from adventitious buds of *Codonopsis radix**

MS salts conc.	% of adventitious buds forming roots	No. of root formed per adventitious buds	Average root length (cm)
1/4 x	96	11.8[a]	2.66[a**]
1/2 x	90	9.2[b]	0.89[b]
1 x	80	6.0[c]	0.79[b]
2 x	52	6.2[c]	0.40[c]

* Basal medium: 3% sucrose, 1 mg/1 NAA and 0.9% agar.
** Same as Table 1 .

根數及根長均最佳，其次依序爲1/2×>1×>2×。

三、不同混合介質對黨參植株移植成活率之影響

將已有粗狀根系之植株，移出試管，種植於含有不同比例混合之介質中（表7），八週後調查其存活率，結果發現各種混合介質中，黨參植株皆有極高之存活率，其中尤以含有1/3腐植土之壤土或壤土：蛭石：腐植土＝2：1：1 之介質，成活率均達100%最佳，唯本試驗之樣品失之過小(每個處理只有10株)，僅具參考價值，爲求慎重，有必要再進一步進行大樣品之測試。

討 論

一、黨參芽體大量繁殖之研究

近年來，由於生物技術(biotechnology) 的迅速發展，利用組織培養技術短時間內可獲得

Table 7. Influence of soil-mixture components on the survival of test tube Codonopsis radix plants after transplanting

Soil-mixture components *			No. of plant transplanted	Survived plants	
Soil	Vermiculite	Peat moss		No.	%
2	0	0	10	8	80**
2	1	0	10	7	70
2	0	1	10	10	100
2	1	1	10	10	100

* Soil-mixture components were mixed by volume.

** Data collected from in vitro plants which have been transplanted for 8 weeks.

高貴藥材之大量繁殖及無病毒植株的產生，已成功的報告有柴胡、金線蓮、竹節人參、半夏、人參、當歸……等二十餘種(Tsay 1993)，就大量繁殖而言，可作爲組織培養之培植體很多，包括花序、莖頂、莖、根、葉、節、鱗莖、胚軸及種子等不同部份(Chen 1991, Fu 1978, Evdei et al. 1981)，而一般培植體之選擇，依材料特性及實際需要而定。本研究以黨參莖段、莖頂、節、葉及根等不同來源培植體爲材料，於含有0.1 mg/l NAA及2 mg/l BA之MS培養基中誘導不定芽之形成，發現不同培植體誘導不定芽之能力各有不同，經50天培養後，莖段培植體形成不定芽能力最佳，本結果與Chen (1991)以輪葉沙參爲材料，誘導不同部位培植體形成不定芽之能力以莖段較佳，及Niu et al. (1991)認爲黨參以莖段爲培植體誘導不定芽有較佳的結果極爲相似。

一般採取莖段爲培植體進行組織培養之大量繁殖，均以接近頂芽之莖段再生能力較強，因此誘導不定芽的數目也較多(Hiraoka and Kodama 1983, Shen 1988, Shoyama Nishioka 1986)。本研究發現黨參之莖段愈接近頂芽之部位再生力愈強，平均0.5cm之莖段即可獲得11個芽體，距離頂芽愈遠則再生能力愈差，和上述諸學者之發現極爲一致，而使用之培養基則以含有2-4 mg/l BA 及0.1 mg/l NAA之MS基本鹽類培養基對不定芽之誘導效果最佳。植物生長調節劑在組織培養大量繁殖工作上扮演著重要角色已無庸置疑，大部份的報告都採用含有1～2 mg/l cytokinins的培養基，以消除植物的頂芽優勢及促進腋芽大量形成，而達到大量繁殖之目的。

Cytokinin具有打破植物頂芽優勢，促進側枝生長及誘導不定芽形成之功能，其誘導植株分化及形成不定芽之濃度依作物種類或不同品種而異，某些藥用植物的用量可高達5-10 mg/l (Tsay 1988)，惟高濃度之cytokinins常會抑制根的生長。較常加在培養基的cytokinins有2ip (N^6-(2-isopentenyl)-adenine)，BA及kinetin三種。BA刺激腋芽分生的效果最強，最常用於莖頂、莖段及側芽培養(Hasegawa et al. 1973, Kitto and Young 1981)，kinetin效果次之，2ip最少使用(Nair et al. 1979, Hu and Wang 1983)。Skoog and Miller (1957)指出cytokinin和auxin之相對比率決定菸草癒合組織形成器官的能力，也決定其它植物之生長與分化；由於此報告，組織培養細胞分化及器官再生之觀點，才被認爲是cytokinin及auxin濃度之間相互控制的結果，

後人也漸漸明瞭高比率的cytokinin/auxin可誘導培植體長芽，auxin多於cytokinin 則有助於根的生長。本研究所得結果不論以2-4 mg/l BA較有利於莖頂誘導不定芽，或1 mg/l NAA較有利於試管苗之發根，均極爲符合上述之原理。

蔗糖、NAA及基本培養基之鹽類濃度對黨參不定芽之發根影響很大。Tamura et al. (1984)曾以1/4 LS基本鹽類(Linsmaier and Skoog 1965)外加1%蔗糖及0.1 mg/l NAA的培養基誘導甜菊試管苗發根；Tsay et al. (1989)以含有5%蔗糖及1 mg/l NAA之1/2 MS基本鹽類培養基誘導半夏試管苗發根；而Chen (1991)則以5%蔗糖及1 mg/l NAA之1/4 MS基本鹽類培養基誘導輪葉沙參試管苗發根，和本研究之結果完全一致。一般認爲使用較低濃度之MS鹽類(1/2~1/4)及0.5~1 mg/l NAA較有利於試管苗之發根，因高濃度的鹽類常會抑制培植體根系的分化。George and Sherrington (1984)報導以組織培養進行大量繁殖之第三階段（誘導發根），若將鹽類濃度減爲半量或1/4量，則發根效果較佳。Zimmerman (1984)亦報導1/4濃度的MS鹽類較易促進蘋果之試管苗發根，而蔗糖濃度之高低則變異較大，適宜之濃度範圍在1~5%間，本研究顯示5%蔗糖最有利於黨參試管苗之發根。

試管苗移植成活率的高低，直接影響黨參組織培養大量繁殖之成效，移植成活率低則組織培養繁殖所得之不定芽都將白費，因此找出最佳之移植條件極爲重要，本研究發現發根良好的黨參試管苗，移植於含有1/3腐植土之壤土或壤土：腐植土：蛭石=2:1:1植材中成活率均高達100%，顯示利用組織培養繁殖所得之試管苗根系極爲健康。利用本研究所建立之組織培養方法可大量繁殖台灣稀有植物黨參供藥用。

誌謝：本文稿英文部份蒙國立臺灣大學農藝系高景輝教授斧正，特此申謝。

引用文獻

Chen, S.J. (1991) Studies on tissue culture of *Adenophora triphylla*. Master Thesis, Graduate Institute of Chinese Pharmaceutical ScienZce, China Medical College, Taichung, Taiwan. pp.1-107.

Evdei, I., Kiss, Z. and Maliga, P. (1981) Rapid clonal multiplication of *Digitalis lanata* in tissue culture. *Plant Cell Rep.* 1:34-35.

Fu, F.M. (1978) Clonal propagation of *Adranda, Ascocenda, Cattleya* by leaf tissue. *Gardens Bull.* 31 : 132-138.

George, E. F. and Sherrington, P.O. (1984) Plant propagation by tissue culture:Handbook and dictionary of commercial laboratories. pp.125-330, Eastern Press Reading, Berks, England.

Hasegawa, P. M. (1973) Factors affecting shoot and root initiation from cultural rose shoot tips . *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 105:216-220.

Hiraoka, N. T. and Kodama, T. (1983) *In vitro* propagation of *Bupleurum falcatum*. *Japan. J. Pharmacognosy* 37:62-67.

Hu, C. Y. and Wang P. J. (1983) Meristem, shoot tip and bud culture. In : Handbook of plant cell culture. Vol. 1 Techniques for propagation and breedings (ed. by D, A. Evans *et al.*). pp.177-227. Macmillan

Publishing Co., New York.

Kitto, S.L. and Young, N.T. (1981) *In Vitro* propagation of *Carrizo citrange*. *HortScience* 16:305-306.

Li, J. S., Jia, J. F., and Qi, F. J. (1993) Plant regeneration from callus protoplast of *Codonopsis pilosula*. *Acta Bot.* 35:864-867.

Linsmaier, E. M. and Skoog, K.(1965) Organic growth factor requirement of tobacco tissue culture. *Physiol. Plant.* 18:100-127.

Murashige, T. and Skoog, F.(1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue. *Physiol. Plant.* 15:473-497.

Nair, N. G. Kartha, K. K. and Gamborg, O. L. (1979) Effect of growth regulators on plant regeneration from shoot apical meristem of cassava (*Manihot esculenta Crantz*)and on the culture of internodes *in vitro*. *Z. Pflanzenphysiol.* 95:51-56.

Niu, D. H., Shao, Q. Q., Zhang, J., and Yu, J. P. (1989) Establishment of embryogenic cloves of *Codonopsis pilosula* Nannf. *Genetic Manipulation in Plants* 5 : 32-40.

Niu, D. H., Shao, Q. Q. and Zhang, J. (1991) Studies of *in vitro* culture and planltet regeneration of *Codonopsis pilosula* Nannf. *Acta. Gent. Sin.* 18:168-174.

Shen, Y. C. (1988) Studies on tissue culture of *Campanulaceae*. Master Thesis, Graduate Institute of Chinese Pharmaceutical Science, China Medical College, Taichung, Taiwan. pp.1-98.

Shoyama, Y. N. and Nishioka, I. (1986) Studies on propagation of *Fritillaria verticillta* by tissue culture. *Japan. J. Pharmacognosy* 40:198-202.

Skoog, F. and Miller, C. O. (1957) Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissues cultivated *In vitro.* : Biological action of growth substances. *Symp. Soc. Exp. Biol.* 11:118-131.

Tamura, Y., Nakamura, S., Fukui, H. and Tabata, M. (1984) Clonal propagation of *Stevia rebaudiana* Bertoni by stem-tip culture. *Plant Cell Rep.* 3:183-185.

Tsay, H. S. (1988) Plant Tissue Culture. *Chung Mei Techniqus* 33:11-30.

Tsay, H. S. (1993) Tissue culture of Chinese medicinal herbs. In: Proc. of a symposium on crop genetics, breeding, physiology and cultivation. pp.107~122, Taichung District Agricultural Improvement Station, Chang-Hwa, Taiwan, ROC.

Tsay, H. S., Gau, T. G. and Chen, C. C (1989) Rapid Clonal propagation of *Pinella ternata* by tissue culture. *Plant Cell Rep.* 8:450-454.

Yoshikawa, Y. and Furuya, T. (1987) Saponin production by culture of *Panax ginseng* transformed with *Agrobacterium rhizogenes*. *Plant Cell Rep.* 6:449-453.

Zimmerman, R. H. (1984) Rooting apple cultivars *In vitro*: Interaction among light, temperature, phloroglucinol and auxin. *Plant Cell Tiss. Organ Cult.* 3:301-311.

收稿日期：84 年 1 月 5 日，接受刊登日期：85 年1月20日

編輯：高景輝

通訊作者：蔡新聲(電話：04-3302301轉108，傳眞：04-3338162)